MANUAL DE INSTRUCCIONES

REDIAR®

REDIAR® Slide & Tube Anti-A; REDIAR® Slide & Tube Anti-B;
REDIAR® Slide & Tube Anti-A,B.
Suero Hemoagrupador Monoclonal Murino IgM.
Para uso diagnóstico in vitro.

INTRODUCCIÓN
En el año 1900, Landsteiner descubrió que el suero de algunos individuos aglutinaba los glóbulos rojos de otros individuos y este fenómeno podría utilizarse para clasificarlos en diferentes grupos sanguíneos. Desde entonces se han reconocido cuatro grupos: A, B, AB y O, y subgrupos de A y B. El fenotipo ABO de un individuo se determina por lo general mediante reacciones de aglutinación entre los glóbulos rojos del individuo y antisueros anti-A, anti-B y anti-A,B (prueba directa).
Para confirmar el agrupamiento en muestras de adultos, se puede enfrentar el suero del individuo con suspensiones de glóbulos rojos A_1 y B (prueba inversa).

USO AL CUAL ESTÁ DESTINADO
Los reactivos REDIAR Slide & Tube Anti-A, REDIAR Slide & Tube Anti-B y REDIAR Slide & Tube Anti-A,B están destinados a la determinación del grupo sanguíneo ABO en el humano por aglutinación directa mediante las técnicas en lámina y tubo.
El reactivo Anti-A es capaz de detectar los subgrupos significativos del A, incluyendo A1 ,A2, A3 y también aglutina la mayoría de las muestras Ax.
El reactivo Anti-B derivado de la línea celular LB-2 no reconoce el antígeno "pseudo B". El fenotipo B adquirido es hallado muy ocasionalmente en pacientes del grupo A y es causado por la deacetilación del antígeno A por enzimas bacterianas, particularmente aquellas asociadas a infecciones intestinales.
El reactivo Anti-A,B es capaz de detectar con mayor intensidad los subgrupos débiles de A y B.
Estos reactivos han sido diseñados para ser utilizados por personal entrenado en técnicas serológicas en inmunohematología.

REACTIVO
Los principales componentes de estos reactivos son derivados de cultivos in vitro de hibridomas murinos secretores de anticuerpos IgM:

Nombre del producto	Línea(s) celular(es)
REDIAR Slide & Tube Anti-A	BIRMA-1
REDIAR Slide & Tube Anti-B	LB-2
REDIAR Slide & Tube Anti-A,B	ES-4/ES-15

Estos reactivos están formulados con anticuerpos monoclonales murinos tipo IgM en una solución buffer que contiene potenciadores químicos, la formulación incluye además azida de sodio 0.1% (w/v), material bovino y porcino. Este producto se provee esterilizado por filtración a 0.22 µm.
El reactivo Anti-A está coloreado con Patent Blue Violet y el reactivo Anti-B está coloreado con Quinoline Yellow C.I. 47005.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO
Estos reactivos deben ser conservados entre 2-8°C. No deben utilizarse si se observa turbidez y no deben diluirse. No utilizar más allá de su fecha de vencimiento.
El almacenamiento de estos productos a temperaturas incorrectas, por ejemplo, almacenar a altas temperaturas o congelaciones y descongelaciones repetidas, pueden llevar a la pérdida acelerada de la actividad de los reactivos.

PRECAUCIONES PARA EL USO Y LA ELIMINACIÓN
Las líneas celulares utilizadas para producir estos reactivos son de origen murino y han sido ensayados y encontrados no reactivos para virus MAP (Mouse Antibody Production). Se debe tener cuidado en el uso y descarte del envase y su contenido.
Estos reactivos contienen 0,1% (w/v) de azida sódica. La azida sódica puede ser tóxica si se ingiere y puede reaccionar con las cañerías de plomo y cobre para formar sales altamente explosivas. Si se descarta por el desagote, enjuagar con grandes volúmenes de agua para prevenir la acumulación de azidas en las cañerías.
Estos reactivos son para uso profesional in vitro solamente.
Estos reactivos contienen material bovino y porcino obtenido de fuentes aprobadas por la USDA libre de Encefalopatía Espongiforme Transmisible (TSEs).
Estos productos deben ser descartados por inmersión en desinfectantes (overnight) a una concentración adecuada o por autoclavado.

RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS
No se requiere una preparación especial del paciente/donante antes de la recolección de la muestra de sangre. Las muestras deben ser obtenidas por una técnica aséptica, recogida en un tubo con anticoagulante (EDTA, heparina o citrato), y conservada entre 2-8°C por un plazo no mayor a 7 días. Los mejores resultados se obtienen al procesar muestras frescas. Las muestras de sangre que presenten contaminación o hemólisis grosera no deberían ser utilizadas. Las muestras obtenidas de unidades de donación de sangre podrán ser ensayadas hasta la fecha de vencimiento de dicha unidad.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO
INFORMACIÓN GENERAL
Estos reactivos han sido estandarizados para el uso mediante las técnicas recomendadas descriptas a continuación; por lo tanto, su desempeño en el uso mediante otras técnicas no puede ser garantizado. Se recomienda especialmente al usuario confirmar si estos reactivos son adecuados antes de utilizarlos en técnicas alternativas.

Materiales y reactivos requeridos no provistos – Técnica en Lámina
- Solución Salina Isotónica.
- Láminas de vidrio
- Cronómetro

Materiales y reactivos requeridos no provistos – Técnica en Tubo
- Tubos de ensayo
- Centrífuga
- Solución Salina Isotónica
- Cronómetro
- Pipeta Pasteur
- Micropipeta
- Tips

TÉCNICAS RECOMENDADAS
Técnica en Lámina
- Colocar una gota del reactivo hemoagrupador ABO en una lámina de vidrio limpia.
- A 1 cm. de distancia colocar una gota de sangre entera o una gota de suspensión globular al 35-50 % en solución salina isotónica.
- Mezclar la muestra y el reactivo empleando una varilla, en un área de 2 cm. de diámetro.
- Balancear la lámina sobre una fuente de luz difusa y observar macroscópicamente si existe aglutinación.
- La aglutinación en la mayoría de las muestras ocurre dentro de unos pocos segundos. En el caso de muestras pertenecientes a subgrupos interpretar los resultados al cabo de 2 minutos.

Técnica en Tubo
- Preparar una suspensión globular al 3-5 % en solución salina isotónica.
- Colocar una gota de cada reactivo hemoagrupador ABO en tubos limpios previamente identificados con anti-A, anti-B y anti-A,B.
- Agregar una gota de suspensión globular a cada tubo.
- Mezclar mediante una suave agitación.
- Centrifugar a 1000 g durante 20 segundos o a otra combinación adecuada de g y tiempo.
- Agitar suavemente el tubo a fin de deshacer el botón celular y observar macroscópicamente si existe aglutinación.
- Los resultados deben ser leídos inmediatamente. Los tubos con reacciones negativas pueden ser incubados durante 5 minutos a temperatura ambiente, luego centrifugar y volver a leer.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS
A continuación se muestran los patrones de reacción de los fenotipos ABO más comunes:

Prueba Directa			GRUPO
Anti-A	Anti-B	Anti-AB	
0	0	0	O
+	0	+	A
0	+	+	B
+	+	+	AB

LIMITACIONES Y RECOMENDACIONES
Todos los resultados obtenidos en las pruebas sobre glóbulos rojos (directas), excepto las realizadas sobre muestras de sangre de infantes, deberían ser confirmadas por una prueba sobre suero (inversa), usando glóbulos rojos conocidos como A1, A2, B y O. Cualquier discrepancia entre las pruebas en glóbulos y en suero debe ser investigada y resuelta antes de informar el grupo sanguíneo.
Si se utiliza sangre entera con bajo hematocrito se recomienda ajustar la concentración de glóbulos rojos (35-50%) antes de realizar la prueba en lámina.
Para la detección de muestras débiles de Ax se recomienda realizar la lectura microscópica y/o un período de incubación de 15 minutos.
Los antígenos ABO no se encuentran completamente expresados al momento del nacimiento; por lo tanto, las pruebas que involucran glóbulos rojos de cordón o neonatales deben ser interpretadas con particular cuidado.
En la técnica en tubo se debe tener cuidado cuando se resuspende el botón celular ya que una agitación excesiva puede disgregar las aglutinaciones débiles y producir resultados falso negativos.
Es importante emplear la fuerza g y tiempo recomendados durante la centrifugación, ya que una excesiva centrifugación puede conducir a dificultades para resuspender el botón celular, mientras que una centrifugación insuficiente puede resultar en aglutinaciones que se disgregan con demasiada facilidad.
La expresión de algunos antígenos eritrocitarios puede disminuir en intensidad durante el almacenamiento, especialmente en aquellas muestras coaguladas o anticoaguladas con EDTA. Los mejores resultados se obtienen cuando se ensayan muestras frescas.
Pueden obtenerse resultados falso negativos o falso positivos debido a la contaminación de los materiales empleados en la prueba, temperatura incorrecta de incubación, almacenamiento inadecuado de los materiales, omisión de reactivos de la prueba o ciertas patologías.
No es indispensable utilizar un reactivo control paralelo a los ensayos usando estos reactivos. Se recomienda el uso de un reactivo control durante el agrupamiento de glóbulos rojos de pacientes que posean autoanticuerpos, glóbulos rojos que poseen una prueba anti-globulínica positiva, niveles anormales de proteínas y glóbulos rojos de cordón.

SÍMBOLOS

Establecimiento Elaborador	Consultar el Manual de Instrucciones
Fecha de Vencimiento	IVD Producto para diagnóstico de uso in vitro
LOT Número de Lote	2°C 8°C Almacenar entre 2°– 8°C

BIBLIOGRAFÍA

1. Moore, S. et al. Vox. Sang. 47: 427-434 (1984). A Mouse Monoclonal Antibody with Anti-A,(B) Specificity which Agglutinates Ax Cells.
2. Mc Donald, D.F. and Thompson, J.M. Vox. Sang. 1991;61:53-58. a New Monoclonal Anti-A Antibody BIRMA-1
3. Issit, P.D. and Anstee, D.J. Applied Blood Group Serology, 4th Edition, Montgomery Scientific Publications, 1998, Chapter 12.
4. Race, R.R. and Sanger, R. Blood Groups in Man 6 th Edition Oxford Blackwell Scientific Publishers 1975:178.
5. Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom, 5th Edition 2001, The Stationary Bo

PRODUCTO DE DIAGNÓSTICO DE USO IN VITRO AUTORIZADO POR LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA. Certificado N°: 6244/08.

ELABORADO POR: FELSAN S.R.L. Palpa 3811, (C1427EBG), C.A.B.A. Argentina.
Director Técnico: Roque Luis Espinosa.
Consultas Técnicas: 4554-7990/8557. Mail: laboratorio@felsan.com.ar

REV-01/08